(19)日本国特許庁(JP)

## (12) 公開特許公報(A)

### (11)特許出顧公開番号

# 特開平4-350816

(43)公開日 平成4年(1992)12月4日

(51) Int CL.5

識別配号

庁内整理番号

FΙ

技術表示箇所

G02B 21/00

7246-2K

審査請求 未請求 請求項の数1(全 4 頁)

(21)出腦番号

特惠平3-126052

(22)出題日

平成3年(1991)5月29日

(71)出願人 000000376

オリンパス光学工業株式会社

東京都渋谷区幡ケ谷2丁目43番2号

(72)発明者 福山 宏也

東京都渋谷区幡ケ谷2丁目43番2号 オリ

ンパス光学工業株式会社内

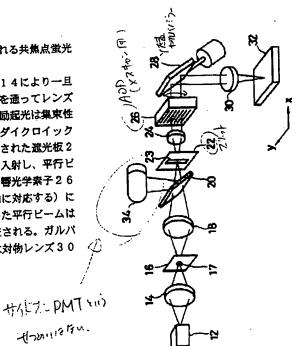
(74)代理人 弁理士 鈴江 武彦

### (54) 【発明の名称】 共焦点蛍光顕微鏡

#### (57)【要約】

【目的】蛍光画像がリアルタイムで得られる共焦点蛍光 顕微鏡を提供する。

【構成】光源から発射された光はレンズ14により一旦 集光され、遮光板16のピンホール17を通ってレンズ 18に入射する。レンズ18に入射した励起光は集束性 ピームに変換され、この集束性ピームはダイクロイック ミラー20を透過し、その集束面に配置された遮光板2 2のスリット23を通ってレンズ24に入射し、平行ピームに変換される。この平行ピームは音響光学案子26 により図の上下方向(試料32のx方向に対応する)に 走査される。音響光学素子26を通過した平行ビームは ガルバノミラー28によりy方向に走査される。ガルバノミラー28で反射された平行ピームは対物レンズ30 により試料32に集光される。



-109-

I

#### 【特許請求の範囲】

【請求項1】 励起光を発する光源と、光源からの励起 光を集光する第一のレンズと、その集光位置に設けられ たスリットと、スリットを通過した光を平行ピームに変 換する第二のレンズと、この平行ビームを定査するビー **ム史査系であり、スリットの延びる方向にピームを偏向** する音響光学素子と、これと直交する方向にピームを偏 向するガルパノミラーとを有するピーム走査系と、ピー ム走査系からの平行ビームを試料に集光する対物レンズ と、光源とスリットとの間に設けられた、励起光と試料 10 の発する蛍光とを分離する分離光学案子とを備える共焦 点蛍光斑微鏡。

#### 【発明の詳細な説明】

[0001]

【産業上の利用分野】本発明は、共焦点蛍光顕微鏡に関 する。

[0002]

【従来の技術】蛍光顕微鏡は、試料に強力な光(励起 光)を照射し、試料の発する蛍光を利用して試料の構造 を観察したり、蛍光の有無や色調から物質を判別する顕 微鏡である。このような蛍光顕微鏡の一つに、解像度が 高くコントラストの高い像を得るために共焦点効果を利 用した共焦点蛍光顕微鏡がある。

【0003】共焦点蛍光顕微鏡の基本的な光学系を図3 に示す。光源12から射出された励起光はレンズ18に より集束性の光ピームに変えられる。この集束性ピーム はダイクロイックミラー20を透過し、遮光板36に設 けらているピンホールを通ってレンズ24に入射し平行 ピームとなる。このピームは、ピーム走査系すなわちス キャナー40に入射し走査される。スキャナー40を出30 とは異なる位置に集光されるが、その位置はスリットの た光ビームは対物レンズ30で集光され試料32に照射 される。試料32の発する蛍光の一部は、対物レンズ3 0に入射する。対物レンズ30に入射した蛍光は、スキ ャナー40を経てレンズ24で集光され、遮光板36の ピンホールを通り、ダイクロイックミラー20に建す <u>る。この蛍</u>光はダイクロイックミラー20で反射され、 |検出器34に入射する。そして、ビーム走査に伴う検出 器34の出力に基づいて試料の画像が構成される。

#### [0004]

【発明が解決しようとする課題】このような光学系にお 40 いて、ピーム走査系つまりスキャナー40には一般にガ ルバノミラーが用いられる。しかし、ガルパノミラーを 2つ組み合わせて構成したビーム定査系では、その定査 速度が遅く、リアルタイムで画像を得られないという不 都合がある。リアルタイム画像を得るには、ガルパノミ ラーの代わりに反応速度の速いビーム偏向素子を用いて ピーム走査系を構成すればよい。このようなピーム偏向 素子としては音響光学素子 (AOD) が考えられる。し かしながら、音響光学素子を用いてビーム走査系を構成 した場合、音響光学素子により偏向される角(音響光学 50 される。

蹇子での回折角) は被長に依存するため、励起光と蛍光 とでその角度が異なり、試料32からの蛍光が遮光板3 6のピンホールを通過できなくなる。従って、この構成 のビーム走査系は共焦点光学系には使用できない。

【0005】本発明は、共魚点蛍光面像をリアルタイム で得られる共焦点蛍光顕微鏡を提供することを目的とす

[0006]

【課題を解決するための手段】上配の目的を達成するた めの本発明の共無点蛍光顕微鏡は、励起光を発する光源 と、光源からの励起光を集光する第一のレンズと、その **集光位置に設けられたスリットと、スリットを通過した** 光を平行ビームに変換する第二のレンズと、この平行ビ 一ムを走査するピーム走査系であり、スリットの延びる 方向にピームを偏向する音響光学素子と、これと直交す る方向にピームを偏向するガルパノミラーとを有するビ 一ム走査系と、ビーム走査系からの平行ビームを試料に **集光する対物レンズと、光源とスリットとの間に設けら** れた、励起光と試料の発する蛍光とを分離する分離光学 **索子とを備えている。** 

#### [0007]

[作用] 光源から発射された励起光は第一のレンズによ り集光され、スリットを通過し、第二のレンズにより平 行ビームに変えられる。この平行ビームはビーム走査系 により走査される。ビーム走査系からのビームは対物レ ンズにより試料に集光される。試料の発する蛍光は対物 レンズで集められ、ビーム走査系を経て、第二のレンズ に入射し集光される。ビーム定査系の音響光学素子によ る蛍光の回折角は励起光のそれとは異なるため、励起光 延びる方向にずれるため、蛍光はスリットを通過でき る。スリットを通過した蛍光は、分離光学素子により励 紀光から分離されて観察される。

[0008]

【実施例】次に図面を参照しながら本発明の共焦点蛍光 顕微鏡の実施例について説明する。本実施例の構成を図 1に示す。光源から発射された光はレンズ14により一 **旦集光され、避光板16のピンホール17を通ってレン** ズ18に入射する。励起光はピンホール17を通過する 際に不要な光が遮断される。レンズ18に入射した励起 光は集束性ピームに変換され、この集束性ピームはダイ クロイックミラー20を透過し、その集束面に配置され た遮光板22のスリット23を通ってレンズ24に入射 し、平行ビームに変換される。この平行ビームは音響光 学案子26に入射し、図の上下方向(つまり試料32に 照射された際のx方向) に走査される。音響光学素子2 6 を通過した平行ピームはガルパノミラー28 に入射し y 方向に走査される。ガルパノミラー28で反射された 平行ビームは対物レンズ30に入射し、試料32に集光 3

[0009] 励起光の照射された試料32はあらゆる方向に蛍光を発する。この蛍光の一部は対物レンズ30に入射して平行ビームとなる。この平行ビームはガルバノミラー28で反射されて音響光学素子26に入射する。音響光学素子26を通過した平行ビームはレンズ24により集光される。このとき、音響光学素子26での回折角は波長に依存するため、図2(A)に示すように、励起光と蛍光とは異なる位置に集光する。しかし、励起光の集光位置に対して蛍光のそれがずれる方向は図2

(B) に示すようにスリット23の延びる方向であり、 したがって蛍光は遮光板22で速られることなく、スリット23内を通過する。スリット23を通過した蛍光は ダイクロイックミラー20で反射され、光検出器34に 入射する。これにより試料32からの蛍光が観察される。

【0010】このように本発明の共焦点蛍光阻微鏡では、音響光学素子26によりx方向のビーム走査が行なわれ、これに直交する方向のビーム走査はガルバノミラー28により行なわれる。この構成のビーム走査系によれば、ガルパノミラーを2つ組み合わせて構成されるビーム走査系に比べて走査速度が大幅に改善され、蛍光画

像をリアルタイムで得られるようになる。しかも、スリットの存在による共焦点効果により、解像度が高くコントラストのある蛍光回像が得られる。

(0011) なお、本発明は上述の実施例に限定される ものではなく、発明の要旨を逸脱しない範囲において極 々多くの変形が可能である。

#### [0012]

[発明の効果] 本発明の共焦点蛍光顕微鏡によれば、従来に比べてピーム走査系の改善され、蛍光画像がリアル 10 タイムで得られるようになる。しかも蛍光画像は共焦点効果により解像度が高くコントラストのあるものが得られる。

#### 【図面の簡単な説明】

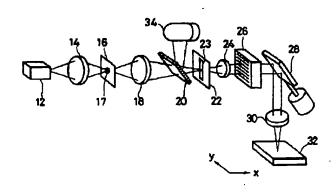
【図1】本発明の共焦点蛍光顕微鏡の構成を示す。

[図2] 励起光の集光位置と蛍光の集光位置とが異なる 様子を示す。

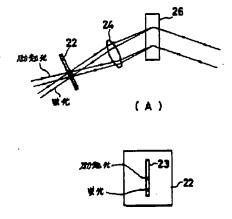
[図3] 共焦点蛍光顕微鏡の基本的な構成を示す。 【符号の説明】

12…光源、18,24…レンズ、20…ダイクロイッ 20 クミラー、26…杏礬光学案子、28ガルパノミラー、 30…対物レンズ。

[図1]



[図2]



(8)

图31 代刊

